

Universidade de Lisboa

Faculdade de Farmácia



**Influência dos polimorfismos genéticos em doentes com
cancro do pulmão submetidos a quimioterapia com
fármacos de platina: Papel de genes de reparação do DNA
de vias NER e BER**

Sara Cristina Costa Mendes

Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas

2017

**Universidade de Lisboa
Faculdade de Farmácia**



**Influência dos polimorfismos genéticos em doentes com
cancro do pulmão submetidos a quimioterapia com
fármacos de platina: Papel de genes de reparação do DNA
de vias NER e BER**

Sara Cristina Costa Mendes

**Monografia de Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas
apresentada à Universidade de Lisboa através da Faculdade de Farmácia**

Orientador: Doutor Nuno Guerreiro Oliveira, Professor Auxiliar com
Agregação

2017

Resumo

A quimioterapia com fármacos de platina é a primeira linha de tratamento para a maior parte dos doentes com cancro do pulmão. Os fármacos de platina atuam formando ligações cruzadas (*cross-links*) com o DNA que inibem a replicação e induzem a apoptose. Contudo, muitos doentes desenvolvem resistência aos fármacos de platina e um dos mecanismos propostos consiste no aumento da atividade das proteínas de reparação do DNA. Os polimorfismos genéticos nas vias de reparação do DNA podem ser biomarcadores preditivos da resposta à quimioterapia e do prognóstico por alterarem a eficácia e a expressão das proteínas de reparação. A presente monografia pretende rever o papel de alguns dos polimorfismos mais investigados das vias de reparação NER e BER na resposta terapêutica, prognóstico e na toxicidade em doentes com cancro do pulmão submetidos a quimioterapia com fármacos de platina. Nomeadamente, oito polimorfismos nos genes ERCC1, ERCC2, ERCC5 da via NER e no gene XRCC1 da via BER. Com base em estudos recentes, verifica-se que os polimorfismos em análise têm efeitos significativos nos resultados clínicos de doentes NSCLC, em especial os polimorfismos Asn118Asn e C8092A do gene ERCC1, que foram associados a um efeito desfavorável na resposta e prognóstico. Também os polimorfismos no gene XRCC1, Arg194Trp e Arg399Gln têm sido associados a uma resposta e prognóstico mais favoráveis. Porém, existem resultados contraditórios entre os diversos estudos, sendo que os efeitos dos polimorfismos parecem ser dependentes da origem étnica. Por isso, os resultados encontrados requerem validação antes de serem transpostos para a prática clínica. É necessário continuar a investigar biomarcadores genéticos em estudos mais uniformes e com amostras de maior dimensão. A farmacogenómica é essencial no desenvolvimento da quimioterapia personalizada do cancro para melhorar a utilização dos fármacos e atingir melhores resultados clínicos.

Palavras-chave: polimorfismos genéticos, cancro, pulmão, quimioterapia, platina

Abstract

Platinum-based chemotherapy is the first line treatment for most lung cancer patients. Platinum drugs form cross-links with DNA that inhibit replication and induce apoptosis. However, many patients develop resistance to platinum drugs and one of the proposed mechanisms consists in an increased activity of DNA repair proteins. Genetic polymorphisms in DNA repair pathways may be predictive biomarkers of chemotherapy response and prognosis by altering the efficiency and expression of repair proteins. This monograph aims to review the role of some of the most investigated polymorphisms from NER and BER repair pathways on therapeutic response, prognosis and toxicity in lung cancer patients undergoing platinum-based chemotherapy. In particular, eight polymorphisms in ERCC1, ERCC2, ERCC5 genes from the NER pathway and in XRCC1 gene from the BER pathway. Based on recent studies, it has been reported that the polymorphisms under analysis have significant effects on the clinical outcomes of NSCLC patients, especially ERCC1 Asn118Asn and C8092A, which were associated with an unfavorable effect on response and prognosis. In addition, XRCC1 Arg194Trp and Arg399Gln polymorphism were associated with favorable response and prognosis. However, there are contradictory results among the several studies performed, being suggested that the effects of the polymorphisms are dependent on the ethnic origin. Therefore, the results found require validation before being transposed into clinical practice. It is necessary to continue to investigate genetic biomarkers in more uniform studies with larger samples. Pharmacogenomics is essential in the development of personalized cancer chemotherapy to improve drug use and achieve better clinical outcomes.

Keywords: genetic polymorphisms, cancer, lung, chemotherapy, platinum

Abreviaturas

ABC	<i>ATP-binding cassette</i>
APE-1	Endonuclease apurínica-apirimidínica 1
BER	Reparação por excisão de bases
CI	Intervalo de confiança
DBS	Quebra de cadeia dupla
DNA	Ácido desoxirribonucleico
EGFR	Recetor do fator de crescimento epidérmico
ERCC 1/2/4/5	<i>Excision repair cross-complementing enzyme group 1 / 2 / 4 / 5</i>
GGR	Reparação genómica global
GSH	Glutationa reduzida
GST	Glutationa S-transferases
HR	<i>Hazard ratio</i>
HRR	Reparação por recombinação homóloga
LCC	Carcinoma de células grandes
MMR	Reparação de emparelhamento erróneo de bases
NER	Reparação por excisão de nucleótidos
NSCLC	Carcinoma do pulmão de células não pequenas
OGG1	DNA glicosilase 8-oxoguanina
OR	<i>Odds ratio</i>
ORR	Taxa de resposta objetiva
OS	Sobrevida global
PARP1	Poli(ADP-ribose) polimerase 1
RT-PCR	<i>Real time polymerase chain reaction</i>
PFS	Sobrevida sem progressão

RRM1	<i>Ribonucleotide reductase catalytic subunit M1</i>
ROS	Espécies reativas de oxigénio
SCC	Carcinoma de células escamosas
SCLC	Carcinoma do pulmão de células pequenas
SNP	Polimorfismo de nucleótido único
TCR	Reparação acoplada à transcrição
TFIIH	Complexo fator de transcrição
XPA/C/D/F/G	<i>Xeroderma pigmentosum group A / C / D / F / G</i>
XRCC1	<i>X-ray repair cross complementing 1</i>

Índice:

Resumo.....	5
Abstract	6
Abreviaturas	7
1. Introdução	12
1.1. Cancro do Pulmão	12
1.2. Tratamento	13
1.3. Mecanismo de Ação dos Fármacos de Platina	14
1.4. Variabilidade Genética	15
1.5. Mecanismos de Resistência e Toxicidade dos Fármacos de Platina	15
1.6. Vias de Reparação do DNA	17
1.7. Objetivo	19
2. Metodologia	20
3. Corpo da Revisão de Conjunto	22
3.1. Via de Reparação por Excisão de Nucleótidos (NER)	23
3.1.1. ERCC1	25
3.1.2. ERCC2 ou XPD	30
3.1.3. ERCC5 ou XPG	35
3.2. Via de Reparação por Excisão de Bases (BER)	39
3.2.1. XRCC1	40
3.3. Discussão	47
4. Conclusões	52
Referências Bibliográficas	54

Índice de Figuras:

Fig. 1- Mapa mundial de acordo com a incidência estimada de cancro do pulmão por 100.000 habitantes, em ambos os sexos, no ano de 2012.....	13
Fig. 2- Estrutura de <i>cross-links</i> intra-catenários platina-DNA	14
Fig. 3- Vias de reparação do DNA para diferentes tipos de lesões	18
Fig. 4- Via de reparação por excisão de nucleótidos (NER)	24
Fig. 5- Efeito do polimorfismo ERCC1 Asn118Asn nos resultados clínicos de doentes de etnias asiática e caucasiana.....	29
Fig. 6- Efeito do polimorfismo ERCC1 C8092A nos resultados clínicos de doentes de etnias asiática e caucasiana.....	29
Fig. 7- Efeito do polimorfismo ERCC2 Asp312Asn nos resultados clínicos de doentes de etnias asiática e caucasiana.....	33
Fig. 8- Efeito do polimorfismo ERCC2 Lys751Gln nos resultados clínicos de doentes de etnias asiática e caucasiana.....	34
Fig. 9- Efeito do polimorfismo ERCC5 His46His nos resultados clínicos de doentes de etnias asiática e caucasiana.....	38
Fig. 10- Efeito do polimorfismo ERCC5 His1104Asp nos resultados clínicos de doentes de etnias asiática e caucasiana.....	38
Fig. 11- Via de reparação por excisão de bases (BER)	39
Fig. 12- Efeito do polimorfismo XRCC1 Arg194Trp nos resultados clínicos de doentes de etnias asiática e caucasiana.....	45
Fig. 13- Efeito do polimorfismo XRCC1 Arg399Gln nos resultados clínicos de doentes de etnias asiática e caucasiana.....	46

Índice de Tabelas:

Tabela 1- Resultados para o polimorfismo ERCC1 Asn118Asn C→T.....	26
Tabela 2- Resultados para o polimorfismo ERCC1 C8092A C→A	27
Tabela 3- Resultados para o polimorfismo ERCC2 Asp312Asn G→A	31
Tabela 4- Resultados para o polimorfismo ERCC2 Lys751Gln A→C	32
Tabela 5- Resultados para o polimorfismo ERCC5 His46His C→T	36
Tabela 6- Resultados para o polimorfismo ERCC5 Asp1104His G→C	37
Tabela 7- Resultados para o polimorfismo XRCC1 Arg194Trp C→T	41
Tabela 8- Resultados para o polimorfismo XRCC1 Arg399Gln G→A	42

1. Introdução

1.1. Cancro do Pulmão

O cancro do pulmão é das doenças oncológicas mais frequentes e mortais do mundo. Estima-se que em 2012, tenham surgido 1,8 milhões de novos casos (13% da incidência do total de cancro) e 1,6 milhões de mortes (20% do total das mortes causadas por cancro) [1]. Em 2013, a incidência por 100.000 habitantes era de 37,18 nos homens e de 13,94 nas mulheres. Todos os anos, a incidência aumenta 0,5% [2]. Existe uma maior taxa de incidência nos países da América do Norte, Europa e Este Asiático, contrastando com as taxas mais baixas nos países africanos [1], como se verifica na Figura 1. Mais de um terço dos novos casos ocorrem na China. O cancro do pulmão tem uma maior taxa de incidência nos homens. No entanto, a taxa de incidência em mulheres tende a aumentar de ano para ano [1]. A idade mediana no diagnóstico é de 69 anos e aproximadamente um terço dos casos surge antes dos 65 anos [2].

O fumo do tabaco (ativo ou passivo) é a principal causa de cancro do pulmão, estimando-se que é responsável por 90% dos casos. Outras causas conhecidas são a exposição ocupacional a agentes cancerígenos como hidrocarbonetos aromáticos policíclicos, metais, sílica cristalina, amianto, e a exposição ambiental à poluição atmosférica, incluindo partículas dos escapes dos motores e da combustão de carvão para uso doméstico [1].

Distinguem-se dois tipos principais de cancro do pulmão: carcinoma do pulmão de células não pequenas (NSCLC) e carcinoma do pulmão de células pequenas (SCLC). NSCLC inclui os subtipos adenocarcinoma, carcinoma de células escamosas (SCC) e carcinoma de células grandes (LCC). Cada subtipo apresenta características histológicas, morfológicas, genéticas e moleculares distintas [1]. NSCLC representam cerca de 80 a 85% dos cancros do pulmão e a sua incidência tem vindo a aumentar progressivamente, especialmente o principal subtipo adenocarcinoma. Por outro lado, a incidência de SCLC tende a diminuir progressivamente e representa 12 a 15% dos cancros do pulmão [2].

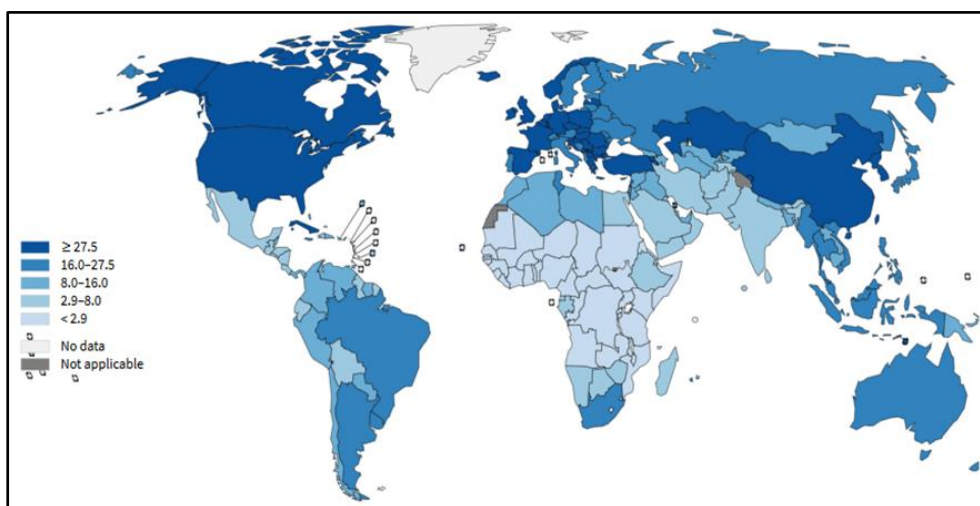


Figura 1 - Mapa mundial de acordo com a incidência estimada de cancro do pulmão por 100.000 habitantes, em ambos os sexos, no ano de 2012. Retirado de: [3]

O cancro do pulmão é um dos cancros mais agressivos. A taxa de sobrevivência após 5 anos encontra-se entre 10 e 15%. Sendo que para doentes no estágio IV é de apenas 2%, e mesmo se for diagnosticado no estágio mais precoce (IA), a sobrevivência é de 50%. O mau prognóstico deve-se ao diagnóstico tardio e à resistência à quimioterapia tradicional [1].

1.2. Tratamento

Para o tratamento do cancro do pulmão existem vários regimes terapêuticos que podem incluir cirurgia, radioterapia e quimioterapia. A cirurgia é o tratamento preferencial e pode ser seguida de quimioterapia adjuvante [2]. Contudo, na maioria dos casos, a doença é diagnosticada em estado avançado e a cirurgia curativa já não é possível [4]. A quimioterapia baseada em platina constitui a primeira linha de tratamento, com radioterapia concomitante ou sequencial. Os fármacos utilizados são a cisplatina (preferencial) ou carboplatina em combinação com um fármaco de 3ª geração (gemcitabina, taxanos, vinorelbina ou premetrexedo). A escolha do tratamento deve ter em conta as características histológicas e moleculares do tumor, a idade, comorbilidades e preferências do doente [2]. Nos últimos anos, desenvolveram-se novas terapias direcionadas para mutações específicas que conduzem ao aparecimento do cancro, como as mutações nos genes EGFR (*epidermal growth factor receptor*), ALK

(*anaplastic lymphoma receptor tyrosine kinase*) e K-ras [5]. Porém, a utilização destas terapêuticas é limitada. Por exemplo, o uso de inibidores da tirosina cinase (erlotinib, gefitinib) como primeira linha é reservado apenas aos doentes que exibem mutações específicas no gene EGFR [2]. Por isso, a quimioterapia baseada em platina continua a ser o tratamento mais utilizado, especialmente nos estádios avançados ou como terapia adjuvante [5].

1.3. Mecanismo de Ação dos Fármacos de Platina

A ação citotóxica dos fármacos de platina provém da sua interação com o DNA, que consiste na formação de aductos platina-DNA, estes provocam distorção da dupla hélice, consequentemente, inibem a replicação e transcrição do DNA e induzem a apoptose [6]. O átomo de platina liga-se covalentemente ao N7 das bases púricas do DNA (adenina e guanina) para formar *cross-links* maioritariamente 1,2-intracatenários e 1,3-intracatenários e, em menor número, *cross-links* intercatenários [7]. Os *cross-links* intra-catenários estão representados na Figura 2.

Além provocar danos no DNA, a cisplatina induz a formação de espécies reativas de oxigénio (ROS) que desencadeiam a morte celular devido ao stress oxidativo [8].

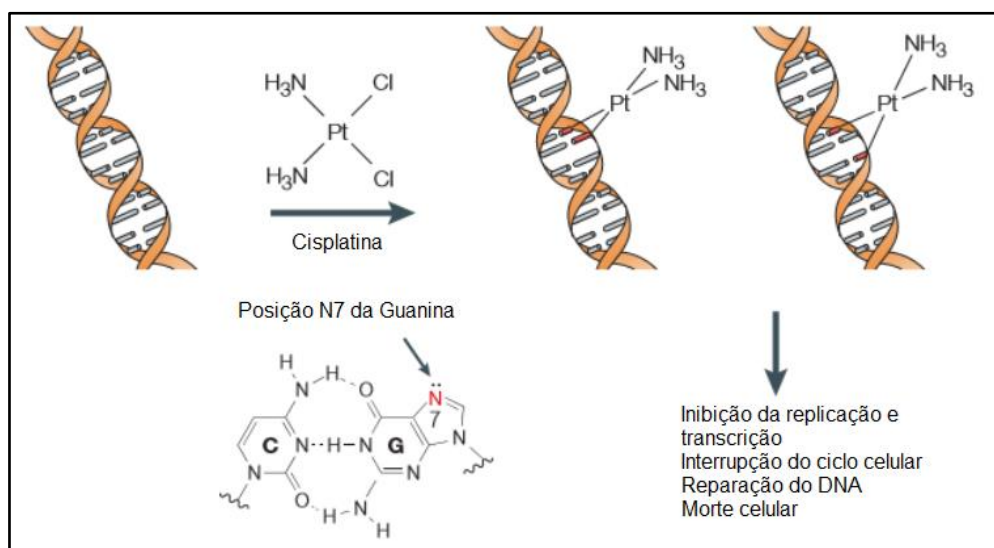


Figura 2 - Estrutura dos *cross-links* intra-catenários platina-DNA. Imagem retirada de: [7]

1.4. Variabilidade Genética

A quimioterapia baseada em platina prolonga a sobrevivência e ajuda a controlar os sintomas [2]. Contudo, os benefícios da quimioterapia baseada em platina variam de doente para doente. Enquanto uma parte dos doentes apresenta respostas favoráveis, muitos desenvolvem resistência à terapêutica ou efeitos adversos graves [5], tais como nefrotoxicidade, náuseas e vômitos, hepatotoxicidade, cardiotoxicidade, ototoxicidade, mielossupressão e reações alérgicas [8]. O estágio da doença no momento do diagnóstico é considerado o principal fator de previsão do prognóstico. No entanto, há diferenças na taxa de sobrevivência de doentes diagnosticados no mesmo estágio e submetidos ao mesmo regime terapêutico [9]. Vários estudos referem que fatores genéticos como os SNPs (*single nucleotide polymorphisms*) nos genes envolvidos na farmacodinâmica, mecanismo de ação e metabolismo dos compostos platina podem contribuir para as diferenças interindividuais na resposta à quimioterapia [10], sendo considerados biomarcadores de suscetibilidade. Um polimorfismo genético é uma variação na sequência de DNA que pode ser encontrada em mais de 1% da população. Os SNPs são o tipo de polimorfismo mais simples e mais comuns, que consiste na variação de uma única base. Os polimorfismos podem causar alterações nas proteínas que codificam, e os que se localizam em regiões reguladoras podem afetar os níveis de transcrição ou a estabilidade do mRNA [11].

1.5. Mecanismos de Resistência e Toxicidade dos Fármacos de Platina

Os mecanismos propostos de resistência à cisplatina incluem alterações no influxo e efluxo do fármaco nas células, o aumento da biotransformação e destoxificação no fígado, o aumento da eficácia dos mecanismos de reparação do DNA e anti-apoptóticos [8].

- **Transporte Transmembranar**

Os mecanismos de influxo e efluxo de cisplatina ainda não estão totalmente esclarecidos. Estudos sugerem que a entrada de cisplatina na célula é facilitada pela proteína CTR1, um transportador de cobre e cisplatina. A expressão aumentada do gene

CTR1 causa acumulação de cisplatina nas células e resulta num maior efeito citotóxico [7].

O mecanismo de efluxo é mediado por membros da superfamília *ATP-binding cassette* (ABC) constituída por glicoproteínas intrínsecas de membrana [12], que bombeiam vários fármacos e xenobióticos para fora da célula, incluindo os fármacos de platina. Entre as quais conhecem-se as proteínas ABCB1 [10], MRP2 (*Multidrug resistance-associated protein 2*) ou ABCC2 [12] e ATP7B [7]. Diferenças na expressão ou atividade destas proteínas influenciam a exposição à cisplatina [12], por promoverem a saída do fármaco da célula [7].

- **Biotransformação**

O processo de inativação da platina envolve a conjugação com glutathione reduzida (GSH), uma reação catalisada pelas enzimas Glutathione S-transferases (GST) que protegem a célula de possíveis danos e ajudam no processo de destoxificação, especialmente a subclasse GSTP1. O aumento da expressão da GSTP1 está relacionado a fenómenos de resistência aos fármacos de platina [12].

- **Reparação dos Aductos Platina-DNA**

Um sistema de reparação do DNA eficaz confere uma menor suscetibilidade ao desenvolvimento de tumores nas células normais, mas em células tumorais, pode conduzir à resistência aos agentes quimioterapêuticos por permitir resistir aos danos no DNA. Defeitos na reparação do DNA podem causar instabilidade genómica e aumentar o risco de desenvolvimento de tumores. Por outro lado, aumentam a sensibilidade das células tumorais à quimioterapia com fármacos de platina [5].

1.6. Vias de Reparação do DNA

A eficácia nos sistemas de reparação do DNA contribui para as diferenças interindividuais na resposta à quimioterapia em doentes com cancro do pulmão [13].

As principais vias de reparação do DNA são:

- NER, reparação por excisão de nucleótidos
- BER, reparação por excisão de bases
- Reparação DSB, reparação de quebras de cadeia dupla
- MMR, reparação de emparelhamento erróneo de bases (*mismatch repair*)
- DR, reparação direta [5]

As vias de reparação encontram-se esquematizadas na Figura 3. Lesões numa cadeia simples de DNA podem ser reparadas pelas vias NER e BER. Sendo que pequenas lesões nas bases do DNA são reparadas pela via BER (ex. SSB – *single strand breaks*, bases oxidadas) e as lesões com maiores dimensões que causam distorção da hélice do DNA são reparadas pela via NER [5]. Ambas as vias de reparação, NER e BER, estão envolvidas no processo de reparação de aductos platina-DNA [12]. As proteínas mais investigadas que participam na via NER são ERCC1 (*Excision repair cross-complementing enzyme group 1*), ERCC2, ERCC5, RRM1 (*Ribonucleotide reductase catalytic subunit M1*) e XPA (*Xeroderma Pigmentosum group A*); e na via BER incluem XRCC1 (*X-ray repair cross complementing 1*), OGG1 (DNA glicosilase 8-oxoguanina), APE-1 (Endonuclease apurínica-apirimidínica 1) e PARP1 (Poli [ADP-ribose] polimerase 1) [5], sendo XRCC1 a mais importante da via BER [12].

Se a reparação da SSB falhar, a lesão pode tornar-se numa DSB e ser reparada pela via de reparação DSB. Existem duas subvias na reparação DSB, a reparação por recombinação homóloga (HRR, *homologous recombination repair*) que atua principalmente nas lesões que ocorrem durante a replicação, nas fases S e G2 do ciclo celular; e a reparação não homóloga por junção de extremidades (NHEJ, *non-homologous end joining*), que corrige DSB independentes da replicação [5].

A via de reparação MMR é responsável pela reparação de erros no emparelhamento de bases, incluindo inserções e deleções [5]. A via MMR não está diretamente envolvida na reparação dos aductos platina-DNA, mas é importante no reconhecimento do aducto e na indução da apoptose.

Todas as vias de reparação são reguladas pela p53, uma proteína supressora de tumores, que interrompe a progressão do ciclo celular para promover a reparação do DNA ou ativar o processo de apoptose [10].

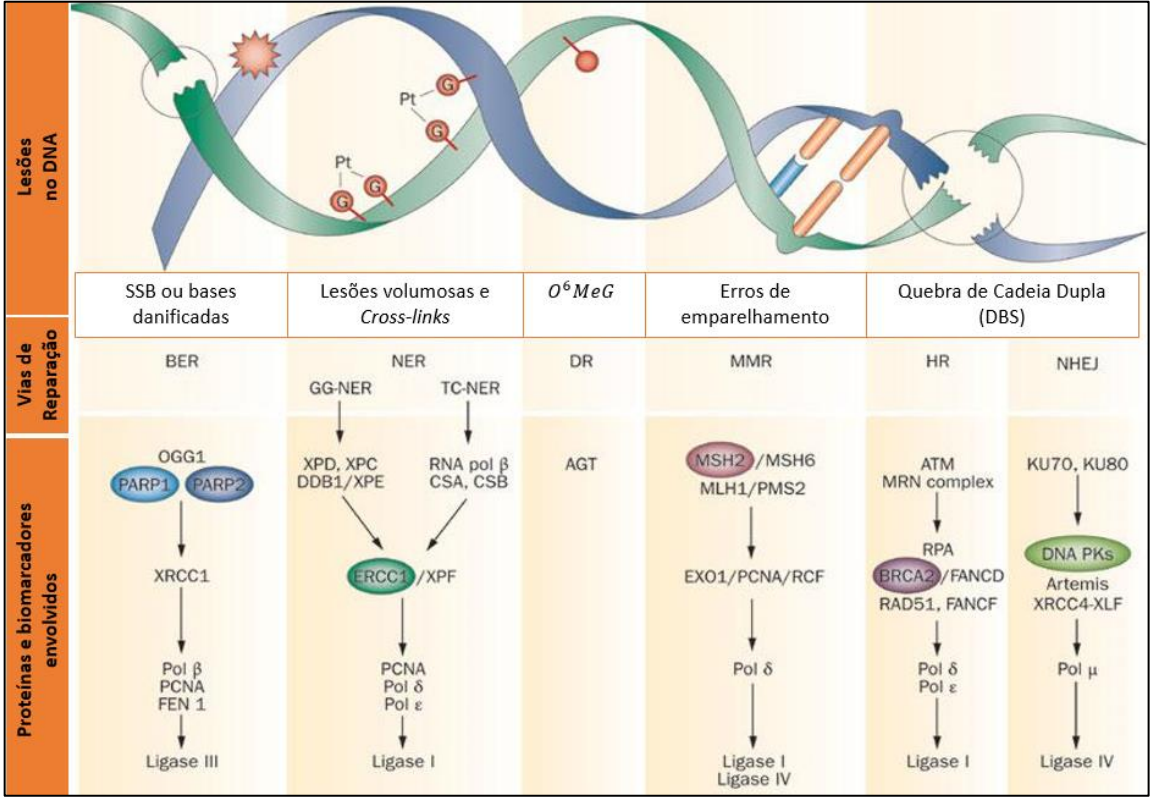


Figura 3 - Vias de reparação do DNA para diferentes tipos de lesões. Adaptado de: [14]

Através de estudos farmacogenômicos, o conhecimento das variantes genéticas nos genes que interferem na eficácia dos agentes terapêuticos pode contribuir para a otimização da utilização dos fármacos de platina e permitir obtenção de melhores resultados clínicos [5].

1.7. Objetivo

A presente monografia tem como objetivo caracterizar a influência dos polimorfismos nos genes ERCC1, ERCC2 e ERCC5 da via NER e XRCC1 da via BER na resposta à quimioterapia baseada em platina no tratamento do cancro do pulmão, a nível da sua eficácia, prognóstico ou toxicidade. Tendo sido escolhidos os dois polimorfismos mais estudados de cada um dos genes referidos.

A pertinência do estudo destes polimorfismos está relacionada com a sua possível utilização na predição dos resultados clínicos dos doentes sujeitos a quimioterapia baseada em platina e podem vir a ser fatores orientadores da terapêutica personalizada do cancro do pulmão.

2. Metodologia

Para caracterizar a influência dos oito polimorfismos genéticos na resposta à quimioterapia baseada em platina em doentes com cancro do pulmão, realizou-se uma pesquisa de artigos científicos nos motores de busca PubMed e B-on, entre 20 de Março e 20 de Agosto de 2017. A pesquisa não foi direccionada para nenhum estágio ou subtipo de cancro do pulmão específico. Porém a maioria dos dados recolhidos referem-se a doentes com NSCLC em estágio avançado (III-IV), por este ser o subtipo mais comum e porque a doença é frequentemente diagnosticada em estado avançado.

Os termos utilizados para a pesquisa foram: *polymorphism, lung cancer, chemotherapy, platinum*.

No PubMed utilizou-se os filtros: <publicado há menos de 5 anos> e <full text>, tendo-se obtido 151 resultados.

Na B-on, devido ao elevado número de resultados que eram obtidos na pesquisa simples, recorreu-se a outros filtros: <apenas artigos científicos>, <inglês>, <revisto por especialistas>, <publicado entre 2012 e 2017>, <disponível na coleção da biblioteca>, <localizar todos os termos de pesquisa> dentro das categorias de Ciência, Biologia, Ciências Aplicadas, Enfermagem e profissionais de saúde, Farmácia e farmacologia, Saúde e Medicina, Saúde Pública e Ciências da Vida. Foram encontrados 287 resultados.

Critérios de inclusão:

- Apenas artigos científicos
- Texto integral
- Idioma em inglês
- Publicado há menos de 5 anos
- Estudos conduzidos exclusivamente em doentes com cancro do pulmão
- Todos os doentes tratados com quimioterapia baseada em platina
- Que relacionem pelo menos um polimorfismo das vias NER ou BER com um ou vários parâmetros (taxa de resposta, sobrevida ou toxicidade)
- Foram incluídos estudos originais, meta-análises e artigos de revisão

Critérios de exclusão:

- Não específicos para o cancro do pulmão
- Artigos que relacionavam polimorfismos com o risco de desenvolver cancro
- Sem dados estatísticos relativos aos alelos ou genótipos
- Publicações anteriores a 2012

Após se excluírem os duplicados, os artigos foram agrupados de acordo com os genes em estudo e para cada gene foram selecionados os estudos com maior número de doentes, mais relevantes e/ou mais recentes. Deu-se preferência aos artigos de revisão e meta-análises por envolverem um maior número de doentes e por já incluírem os estudos mais pequenos. Apesar de se terem selecionado apenas publicações dos últimos 5 anos, várias meta-análises e artigos de revisão recentes incluem dados de estudos anteriores a 2012. Foram considerados apenas os dados estatisticamente significativos, com $p < 0,05$ e um intervalo de confiança de 95%.

3. Corpo da Revisão de Conjunto

A metodologia adotada na generalidade dos estudos selecionados da literatura consistiu na análise da relação entre os SNPs nos genes das vias de reparação NER (ERCC1, ERCC2, ERCC5) e BER (XRCC1) com os resultados clínicos de doentes com cancro do pulmão submetidos a quimioterapia baseada em platina. Cada estudo englobou um número variável de doentes, em que se realizou a genotipagem através de técnicas RT-PCR (*Real time polymerase chain reaction*) a partir de amostras de sangue. Em cada um dos estudos, os doentes foram agrupados de acordo com o genótipo apresentado, tendo sido avaliados os seguintes parâmetros:

- ORR (*objective response rate*), que corresponde à proporção de doentes que apresentam resposta completa ou parcial ao tratamento
- OS (*overall survival*) corresponde ao intervalo de tempo entre o diagnóstico e a morte ou a data do último contacto com o doente
- PFS (*progression-free survival*) corresponde intervalo de tempo entre o diagnóstico e o início de progressão tumoral, morte ou a data do último contacto com o doente
- Frequência da ocorrência de vários tipos de toxicidade

Os valores médios de ORR, OS e PFS e a frequência de vários efeitos adversos foram calculados pelos autores dos vários estudos consultados para cada grupo e foram aplicados diferentes modelos de comparação utilizando as razões OR (*Odds ratio*) e HR (*Hazard ratio*) com um intervalo de confiança de 95%. O cálculo de OR é utilizado na comparação da taxa de resposta ou de toxicidade entre grupos. Por exemplo, um OR superior a 1 indica que há uma maior ORR de um grupo em relação a outro, e um OR inferior a 1 indica menor ORR em relação ao grupo de referência. O cálculo de HR é utilizado na comparação de OS e PFS entre grupos e corresponde ao risco de morte (ou de progressão tumoral no caso de PFS), quanto menor for o seu valor, maior a sobrevivência de um grupo em relação a outro. Por exemplo, um valor de HR igual a 0.5 significa que o risco de morte no grupo em análise é metade do risco de morte no grupo de referência [15].

3.1. Via de Reparação por Excisão de Nucleótidos (NER)

As vias de reparação do DNA têm um papel significativo na modulação da citotoxicidade da cisplatina. A via NER é responsável pela remoção da maior parte dos *cross-links* platina-DNA [7]. A via NER remove e repara lesões que causam distorção da cadeia de DNA. É uma via complexa, envolvendo mais de 30 proteínas e múltiplos passos que constitui um mecanismo de defesa contra agentes cancerígenos, tais como o fumo do tabaco e a radiação ultravioleta [9]. O processo inicia com o reconhecimento da lesão no DNA, segue-se a excisão e remoção de um fragmento com aproximadamente 30 bases da cadeia simples de DNA que contém a lesão e, posteriormente, a síntese e a ligação do novo fragmento à cadeia pré-existente [7].

Existem duas subvias da NER, a reparação acoplada à transcrição (TCR) e a reparação genómica global (GGR). A subvia TCR consiste na reparação de cadeias transcritas pela RNA polimerase II e GGR consiste na reparação do DNA genómico. Em células humanas, a lesão é reconhecida por diferentes proteínas nas duas subvias; XPC/HR23B está envolvido na GGR e os genes CSA e CSB (síndrome de *cockaine* A e B) estão envolvidos na TCR. As duas subvias diferenciam-se na forma como reconhecem a lesão, mas partilham o mesmo mecanismo de reparação. XPA e RPA (Proteína de replicação A1) são recrutados e atuam como um complexo que confirma o reconhecimento da lesão. TFIIH (Complexo fator de transcrição) é recrutado, este complexo está envolvido reparação do produto de transcrição e do DNA. XPB e ERCC2 (XPD) são as helicases do complexo TFIIH que separam a dupla cadeia de DNA na região em volta do aducto antes da incisão. De seguida, XPF/ERCC1 e ERCC5 (XPG), duas endonucleases promovem a cisão em 5' e 3' do aducto de DNA, respetivamente, removendo um fragmento com 24 a 32 bases que contém a lesão [7]. O esquema do funcionamento da via NER está representado na Figura 4.

O aumento da atividade da via NER foi associado à resistência à platina e a diminuição da sua atividade da NER aumenta a sensibilidade a estes agentes [16]. Neste sentido, pensa-se que os polimorfismos nos genes desta via de reparação podem vir a ser utilizados na predição dos resultados clínicos e prognóstico dos pacientes NSCLC submetidos à quimioterapia baseada em platina [9]. Inúmeros estudos sobre a influência

dos polimorfismos dos genes da via NER na resposta à quimioterapia com platina em doentes com carcinoma do pulmão têm sido publicados e revistos na literatura [17].

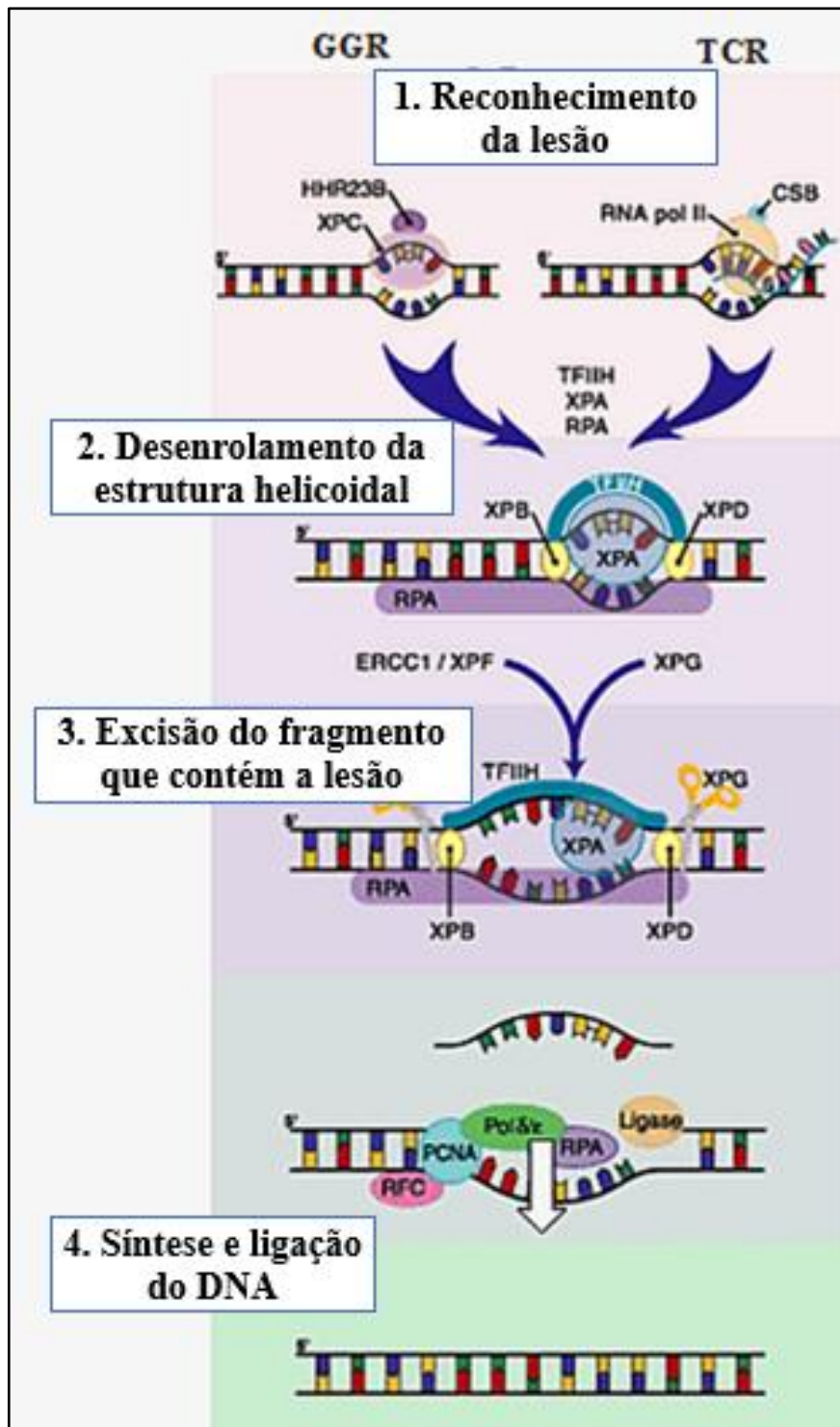


Figura 4 - Via de reparação por excisão de nucleótidos (NER). Retirado de: [18]

3.1.1. ERCC1

A proteína ERCC1 é fundamental na via NER, associa-se a ERCC4, também chamada XPF, o complexo ERCC1/XPF e faz uma incisão no 5' no final da lesão, permitindo a remoção da cadeia danificada e posterior polimerização [5, 10]. Foi reportado que o aumento dos níveis de expressão de ERCC1 pode reduzir a eficácia e provocar resistência à platina [19].

Os polimorfismos no gene ERCC1 têm sido extensivamente estudados em doentes com NSCLC avançado tratados com fármacos de platina. Entre os SNPs mais investigados de ERCC1 destacam-se:

- Asn118Asn (rs11615), uma substituição sinónima de citosina para timina (C→T) no códon 118, exão 4, que não causa alteração do amino-ácido produzido.
- C8092A (rs3212986), uma substituição de citosina para adenina (C→A) na região não traduzida 3' [10].

O mecanismo exercido por estes polimorfismos ainda não é conhecido. Porém, pensa-se que esteja relacionado com a sua influência nos níveis de expressão da proteína. Vários estudos procuraram encontrar uma correlação entre os SNPs de ERCC1 e a resposta à quimioterapia baseada em platina em doentes NSCLC, sendo que os resultados são contraditórios em ambas as etnias asiática e caucasiana [10]. As razões propostas para as variações nos resultados incluem a complexidade do gene, amostras não representativas e diferenças no desenho dos estudos [19]. Os resultados de estudos encontrados para os SNPs no gene ERCC1 Asn118Asn e C8092A estão apresentados nas Tabelas 1 e 2, respetivamente. Nestas tabelas, assim como nas seguintes desta secção, encontram-se mencionados a população em estudo, os principais resultados observados, o nome do primeiro autor e a respetiva referência de cada estudo.

Tabela 1 - Resultados para o polimorfismo ERCC1 Asn118Asn C→T

População em estudo	Resultados	Estudo/Ano /Referência
Etnia caucasiana (Polónia), n=62	Não foram verificadas associações significativas com ORR ou OS	Mlak/ 2013/ [20]
Etnia asiática (China), n=163	O genótipo TT (OR=0,33 CI: 0,11-0,91) e o alelo T (OR=0,53 CI: 0,33-0,86) foram associados a pior ORR e menor OS (TT: HR=3,74 CI: 1,32-12,63; T: HR=1,97 CI: 1,20-3,34), comparativamente ao genótipo CC e ao alelo C	Gao/ 2014/ [21]
Etnia caucasiana (Espanha), n=161	O genótipo CC foi associado a pior ORR comparativamente aos genótipos TT+TC (OR=0,11 CI: 0,01-0,66). Não se encontrou relação com OS ou com a toxicidade	Sullivan/ 2014/ [17]
Etnia asiática (China), n=437	Os genótipos TT+TC foram associados a anemia severa (OR=2,23 95%CI: 1,04-4,78) comparativamente ao genótipo CC	Zheng/ 2017/ [22]
Meta-análise com doentes de ambas etnias	Não se encontrou relação com ORR, em 1750 doentes NSCLC. Os genótipos CT+TT foram relacionados com menor OS (HR=1,38 CI: 1,07-1,78), apenas no subgrupo asiático (em 3351 doentes no total)	Xu/ 2013/ [23]

Tabela 1 (Cont.) - Resultados para o polimorfismo ERCC1 Asn118Asn C→T

Meta-análise com doentes de etnia asiática (China), n=729	Não se encontrou relação significativa com ORR	Huang/ 2014/ [9]
Meta-análise com doentes de ambas as etnias	No subgrupo asiático, os genótipos CT+TT foram associados a menor ORR (OR=0,80 CI: 0,67-0,94, num total de 3272 doentes) e a menor OS (HR=1,24 CI: 1,01-1,53, num total de 2926 doentes) comparativamente ao genótipo CC, o que não se verificou nos doentes caucasianos	Han/ 2015/ [19]

Tabela 2 - Resultados para o polimorfismo ERCC1 C8092A C→A

População em estudo	Resultados	Estudo/Ano /Referência
Etnia asiática (China), n=163	O genótipo AA e o alelo A foram associados a pior ORR (AA: OR=0,17 CI: 0,038-0,62; A: OR=0,44 CI: 0,27-0,74) e a menor OS (AA: HR=5,21 CI: 1,41- 31,73; A: HR=1,99 CI: 1,13- 3,35), comparativamente ao genótipo CC e o alelo C	Gao/ 2014/ [21]
Etnia caucasiana (Espanha), n=161	Não se encontraram associações significativas com ORR, OS ou toxicidade	Sullivan/ 2014/ [17]

Tabela 2 (Cont.) - Resultados para o polimorfismo ERCC1 C8092A C→A

Etnia asiática (China), n=437	O genótipo AA foi associado a toxicidade hematológica (OR=0,326 95%CI: 0,123-0,81) comparativamente a CA+CC	Zheng/ 2017/ [22]
Meta-análise com doentes de ambas as etnias	Não se encontrou relação com ORR (em 625 doentes) ou OS (em 852 doentes). Ausência de associação também nos subgrupos	Xu/ 2013/ [23]
Meta-análise com doentes de etnia asiática (China), n=1102	Não se encontrou relação significativa com ORR	Huang/ 2014/ [9]
Meta-análise com doentes de ambas as etnias	No subgrupo asiático, os genótipos CA+AA e AA foram associados a pior ORR (CA+AAvs CC: OR=0,76 CI: 0,60-0,96), em 1607 doentes, e a menor OS (CA+AAvs CC: HR=1,37 CI: 1,06-1,75), em 1078 doentes NSCLC, comparativamente a CC	Han/ 2015/ [19]

Resultados relativos ao polimorfismo em ERCC1 Asn118Asn (C→T) (ver Figura 5):

- O alelo T foi associado a menor ORR [19,21], menor OS [19, 21, 23] e a anemia severa, em doentes asiáticos com NSCLC [22]. Contudo, este resultado não se verificou em todas as meta-análises [9].
- Em doentes caucasianos, um estudo indica que portadores do genótipo CC são mais propensos a uma resposta desfavorável à quimioterapia baseada em platina [17]. No entanto, outro estudo [20] e duas meta-análises não encontraram associações significativas [19, 23].

Resultados relativos ao polimorfismo ERCC1 C8092A (C→A) (ver Figura 6):

- O alelo A foi associado a toxicidade hematológica [22] e a diminuição da ORR e OS nos doentes de etnia asiática [19, 21]. Duas meta-análises não encontraram

associações entre a variante genética e os resultados clínicos de dentes asiáticos [9, 23].

- Estudos originais e meta-análises não conseguiram encontrar nenhuma associação significativa entre ERCC1 C8092A e resposta à quimioterapia na população caucasiana [17, 19, 23]. O mesmo foi verificado no estudo de revisão de Pérez-Ramírez [10].

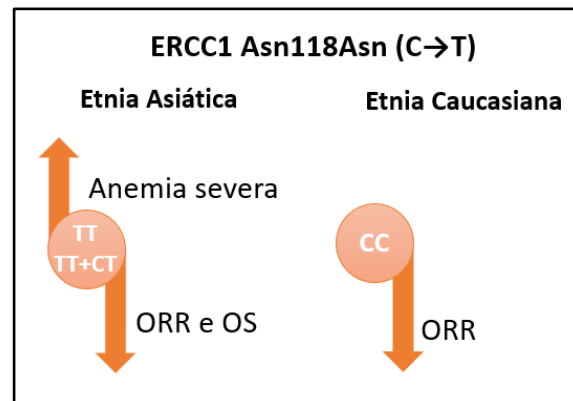


Figura 5 - Efeito do polimorfismo ERCC1 Asn118Asn nos resultados clínicos de doentes de etnias asiática e caucasiana.

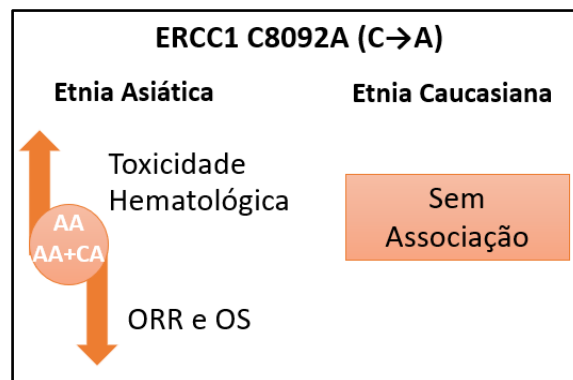


Figura 6 - Efeito do polimorfismo ERCC1 C8092A nos resultados clínicos de doentes de etnias asiática e caucasiana.

Os resultados encontrados estão de acordo com dois estudos de revisão recentes [5, 10]. Mostram uma grande discrepância entre os resultados relativos ao valor preditivo dos polimorfismos em ERCC1, o que limita a utilização dos dados na prática clínica.

3.1.2. ERCC2 ou XPD

O gene ERCC2, também chamado XPD é um gene multifuncional, tem duas funções principais na célula: participa na via de reparação NER e na resposta apoptótica mediada pela p53. Codifica para um componente do fator de transcrição II H (TF IIH) e atua como uma helicase ATP-dependente [24], que desenrola as cadeias de DNA próximo do local danificado. A sua expressão foi relacionada com a resistência à cisplatina [5].

Os polimorfismos mais estudados do gene ERCC2 são:

- Asp312Asn (rs1799193), uma substituição de guanina para adenina (G→A) no codão 312, exão 12, que resulta numa alteração do ácido aspártico para asparagina.
- Lys751Gln (rs13181), uma substituição de uma adenina para citosina (A→C), no codão 751, exão 23, que resulta numa mudança do amino-ácido lisina para glutamina [5, 10].

O codão 312 do gene ERCC2 é altamente conservado, o que indica que pode ser importante para a função da proteína. Por outro lado, o codão 751 no N-terminal é pouco conservado [24]. Os dois polimorfismos são possíveis marcadores da resposta e sobrevivência à quimioterapia baseada em platina, por influenciarem a expressão de ERCC2 [5, 10]. Os polimorfismos ERCC2 Asp312Asn e Lys751Gln foram associados a diminuição da capacidade de reparação do DNA. Vários estudos investigaram sua influência na resposta à quimioterapia em doentes NSCLC, porém os resultados são inconstantes [25]. Nas Tabelas 3 e 4 estão apresentados os resultados de vários estudos, incluindo meta-análises, para os polimorfismos do gene ERCC2 (XPD) Asp312Asn e Lys751Gln, respetivamente.

Tabela 3 - Resultados para o polimorfismo ERCC2 Asp312Asn G→A

População em estudo	Resultados	Estudo/Ano/Referência
Etnia caucasiana (Espanha), n=161	Sem associações significativas com ORR, OS ou toxicidade	Sullivan/ 2014/ [17]
Etnia asiática (China), n=375	Sem associações significativas com ORR e OS	Zhang/ 2014/ [26]
Etnia asiática (China), n=93	Não se verificou associação significativa com ORR ou PFS. O genótipo GG OS=20 meses (16.3-23.6) foi associado a maior OS comparativamente a AG OS= 12.4 meses (11.0-13.9)	Zhou/ 2014/ [24]
Meta-análise com doentes de ambas as etnias	Não se verificaram associações significativas com ORR (em 1588 doentes), OS (em 2053 doentes) ou PFS	Quin/ 2013/ [25]
Meta-análise com doentes de ambas as etnias	Em 1145 doentes, o alelo A foi associado a pior ORR comparativamente ao alelo G (OR=0,44 95%CI: 0,26-0,73), o que se verificou nas etnias asiática e caucasiana. Contudo, o genótipo GA foi associado a maior OS nos doentes caucasianos (HR=0,78 95%CI: 0,62-0,99) e a menor OS nos doentes asiáticos (HR=1,55 95%CI:1,04-2,32) comparativamente a GG	Qiu/ 2013/ [27]

Tabela 4 - Resultados para o polimorfismo ERCC2 Lys751Gln A→C

População em estudo	Resultados	Estudo/Ano/Referência
Etnia asiática (China), n=115	Sem associações significativas para ORR, OS, PFS, toxicidade hematológica ou gastrointestinal	Cheng/ 2013/ [28]
Etnia asiática (China), n=496	Sem associações significativas com ORR, OS ou PFS	Li/ 2013/ [29]
Etnia caucasiana (Espanha), n=161	Sem associações significativas ORR, OS ou toxicidade	Sullivan/ 2014/ [17]
Etnia asiática (China), n=375	Sem associações significativas com ORR ou OS	Zhang/ 2014/ [26]
Etnia asiática (China), n=93	Não se verificou associação significativa com a ORR ou PFS. O genótipo AA (205 16,9-24,1) foi associado a maior OS comparativamente a AC (11,5 9,1-15,2)	Zhou/ 2014/ [24]
Meta-análise com doentes de ambas as etnias	Não se verificou associação com ORR (em 2383 doentes), OS (em 3453 doentes) ou PFS (em 2001 doentes). Contudo no subgrupo asiático, os genótipos CC+CA foram associados a menor PFS comparativamente a AA (HR=1,39 95% CI: 1,07-1,81)	Quin/ 2013/ [25]
Meta-análise com doentes de ambas as etnias, n=2241	Não se verificou associação significativa com ORR ou OS	Qiu/ 2013/ [27]
Meta-análise com doentes de etnia asiática (China), n=2043	Não se verificou associação significativa com ORR	Huang/ 2014/ [9]

Resultados relativos ao polimorfismo ERCC2 Asp312Asn (G→A) (ver Figura 7):

- Vários não encontraram associações significativas do polimorfismo e os resultados clínicos de doentes de ambas as etnias [17, 26, 29].
- Apenas uma meta-análise demonstrou que o alelo A foi associado a pior ORR nas etnias caucasiana e asiática [27]. O genótipo GA foi associado a menor OS dos doentes asiáticos [24,27]. Contudo, nos doentes caucasianos, o genótipo GA foi associado a maior OS [27].

Resultados relativos ao polimorfismo ERCC2 Lys751Gln (A→C) (ver Figura 8):

- A maioria dos estudos não encontraram relação entre o polimorfismo e os resultados clínicos de doentes de ambas as etnias [9, 17, 26, 27, 28, 29]. Sendo que nenhuma associação foi encontrada para a etnia caucasiana.
- Apenas um estudo com doentes chineses associou o genótipo AA com o aumento da sobrevivência [24]. E uma meta-análise referiu que os genótipos CC/CA foram associados a menor PFS, no subgrupo de doentes asiáticos [25].

Em concordância com Xiong et al [5], a maior parte dos estudos mostram que ambos os polimorfismos no gene ERCC2 não têm um efeito significativo na resposta à quimioterapia baseada em platina.

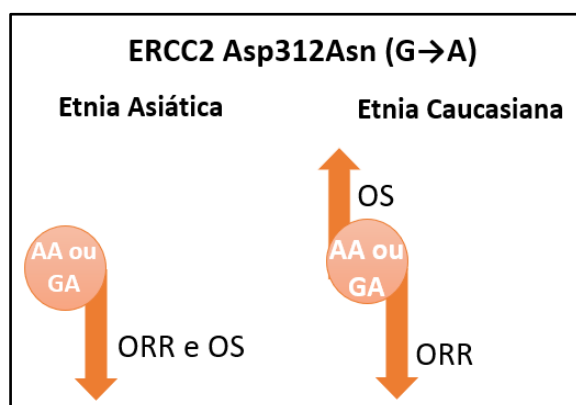


Figura 7 - Efeito do polimorfismo ERCC2 Asp312Asn nos resultados clínicos de doentes de etnias asiática e caucasiana.

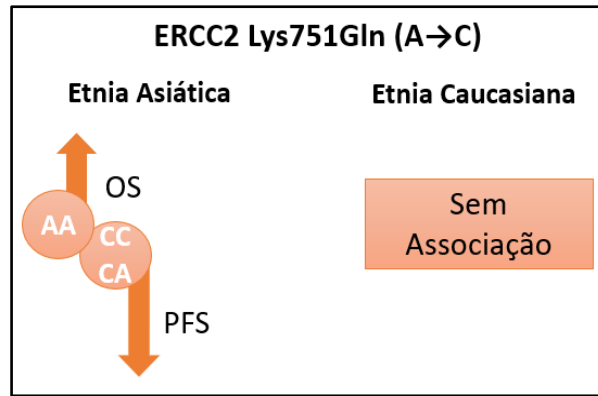


Figura 8 - Efeito do polimorfismo ERCC2 Lys751Gln nos resultados clínicos de doentes de etnias asiática e caucasianos.

3.1.3. ERCC5 ou XPG

O gene ERCC5, também conhecido como XPG, tem um papel indispensável na via NER, sendo responsável por uma atividade endonucleásica específica [5, 30]. A proteína ERCC5 atua nas duas subvias da NER, TCR e GGR [31]. O gene ERCC5 codifica para uma endonuclease que atua em conjunto com o complexo ERCC1-XPF na excisão das lesões no DNA [5]. ERCC5 catalisa a incisão em 3', a aproximadamente 5 nucleótidos da lesão [30, 31]. ERCC5 possui outras funções secundárias, tais como a transcrição mediada pelo recetor TFIIH e a remoção de danos oxidativos pela via BER [31].

Estudos sugerem que polimorfismos no gene ERCC5 podem estar envolvidos na resposta à quimioterapia em vários tipos de cancro, tais como o cancro pulmão, colorectal e do ovário [16]. Os dois SNP de maior relevância no gene ERCC5 são:

- His46His (rs1047768), uma substituição sinónima de uma base de citosina para timina (C→T) no codão 46, exão 2.
- His1104Asp (rs17655), uma substituição de guanina para citosina (G→C) no codão 1104, exão 15, que leva à alteração do amino-ácido histidina para ácido aspártico [10].

A influência destes polimorfismos na resposta à quimioterapia e prognóstico em doentes NSCLC tem sido investigada em vários estudos. Contudo os resultados são pouco conclusivos. O mecanismo pelo qual exercem o seu efeito ainda não está esclarecido [31]. Nas tabelas 5 e 6 estão apresentados os resultados de vários estudos, incluindo meta-análises, para os polimorfismos de ERCC5 (XPG) His46His e His1104Asp, respetivamente.

Tabela 5 - Resultados para o polimorfismo ERCC5 His46His C→T

População em estudo	Resultados	Estudo/Ano /Referência
Etnia asiática (China), n=451	O genótipo TT foi associado a pior ORR (OR=0.38 95% CI: 0.18-0.78), menor PFS (HR=2.06 95% CI: 1.01-4.50) e menor OS (HR= 2.29 95% CI: 1.21 - 2.49) comparativamente ao genótipo CC	Zhang/ 2013/ [16]
Etnia asiática (China), n=378	O genótipo TT foi associado a melhor ORR (OR=1.90 95%CI: 1.10-3.28), maior PFS (HR=0.47 95%CI: 0.22-0.82) e maior OS (HR= 0.52 95% CI: 0.31 - 0.96), comparativamente ao genótipo CC	Liu/ 2014/ [13]
Etnia caucasiana (Espanha), n=161	Não se verificaram associações significativas com ORR e OS dos doentes	Sullivan/ 2014/ [17]
Etnia asiática (China), n=437	O genótipo TT foi associado a leucocitopénia (OR=1.70 95%CI: 1.02-2.84) comparativamente a CC	Zheng/ 2017/ [22]
Meta-análise com doentes de etnia asiática (China), n=846	Registou uma associação significativa com a resposta tumoral (TT vs. CC: RR=1.31, 95% CI: 1.14-1.5, no modelo recessivo, TT vs. CC/CT: RR=1.22, 95% CI: 1.11-1.36, no modelo dominante, TT/CT vs. CC: RR=1.23, 95% CI: 1.11-1.36)	Huang/ 2014/ [9]
Meta-análise com doentes de ambas as etnias, n=1372	Sem associação com ORR, nem nos subgrupos étnicos. Para OS também não se verificou associação em 3 estudos apenas com doentes asiáticos	Xiang/ 2017/ [31]

Tabela 6 - Resultados para o polimorfismo ERCC5 Asp1104His G→C

População em estudo	Resultados	Estudo/Ano /Referência
Etnia asiática (China), n=451	Sem associações significativas com PFS ou OS	Zhang/ 2013/ [16]
Etnia asiática (China), n=433	Sem associações significativas com PFS ou OS	Yuli/ 2013/ [30]
Etnia asiática (China), n=378	Não se verificaram associações significativas com ORR, PFS ou OS	Liu/ 2014/ [13]
Etnia caucasiana (Espanha), n=161	Não se verificaram associações significativas com ORR ou OS	Sullivan/ 2014/ [17]
Etnia asiática (China), n=437	O genótipo CC foi associado a trombocitopenia (OR=2.165 95%CI: 1.191-3.938) comparativamente a GG	Zheng/ 2017/ [22]
Meta-análise de com doentes de ambas as etnias, n=1148	Sem associação com ORR, exceto no subgrupo asiático, no qual o genótipo GG foi associado a melhor ORR (OR=1.57 95%CI: 1.05-2.34). Associações com OS não foram reportadas, nem nos subgrupos	Xiang/ 2017/ [31]

Resultados relativos ao polimorfismo ERCC5 His46His (C→T) (ver Figura 9):

- Em doentes asiáticos, o genótipo TT foi associado a menor ORR, menor OS e menor PFS [16] e maior risco de leucocitopenia [22]. Contudo, outros estudos indicam o contrário, que o genótipo TT aumenta ORR [9, 13], OS e PFS [13].
- Não se verificaram associações na etnia caucasiana [17, 31].

Resultados relativos ao polimorfismo ERCC5 His1104Asp (G→C) (ver Figura 10):

- A maioria dos estudos não encontrou associações significativas [13, 16, 17, 30]. Sendo, que nenhuma associação foi encontrada em doentes caucasianos.
- Um estudo com doentes chineses associou o genótipo CC a maior risco de trombocitopenia [22]. Uma meta-análise indica que o genótipo GG foi associado a maior ORR no subgrupo asiático [31].

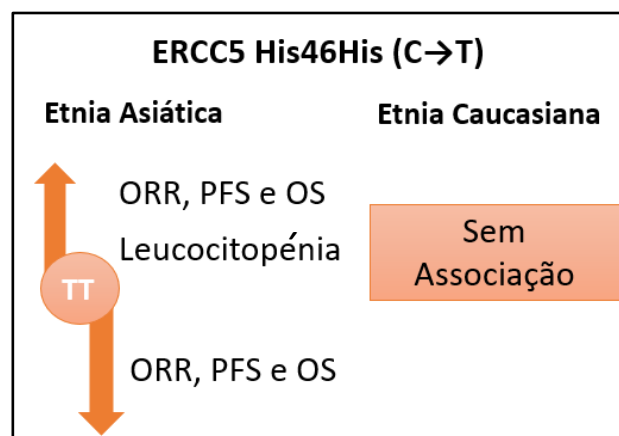


Figura 9 - Efeito do polimorfismo ERCC5 His46His nos resultados clínicos de doentes de etnias asiática e caucasiana

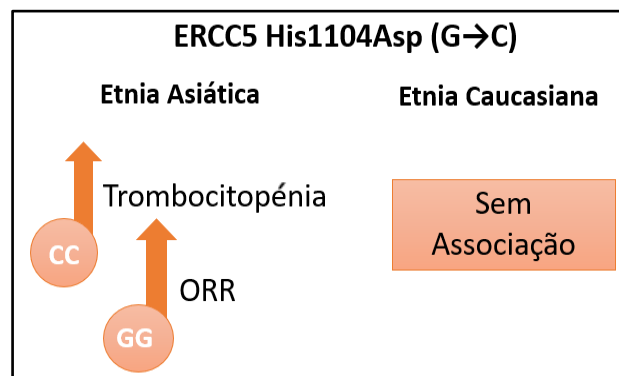


Figura 10 - Efeito do polimorfismo ERCC5 His1104Asp nos resultados clínicos de doentes de etnias asiática e caucasiana.

3.2. Via de reparação por excisão de bases (BER)

A via BER é responsável por remover bases alteradas ou locais abásicos que podem ser induzidos por reações de alquilação, desaminação, oxidação, hidroxilação ou metilação [10], incluindo lesões causadas por quimioterapia baseada em platina [17]. Estas lesões podem não bloquear a transcrição e normal replicação, mas normalmente causa *miscoding* [10]. Para lidar com esta variedade de lesões, existem duas subvias de BER nas células de mamíferos: a *short-patch* (SP) BER que consiste na reparação de apenas um nucleótido e *long-patch* (LP) BER, a reparação de 2 a 13 nucleótidos [5]. As principais enzimas interferentes na via BER são as PARP1, PARP2, a APE1 e XRCC1 [10]. Estas podem ser importantes na modulação da sensibilidade da quimioterapia. Por isso, os polimorfismos nos genes da BER têm sido investigados em doentes NSCLC [5]. O funcionamento da via BER encontra-se esquematizado na Figura 11.

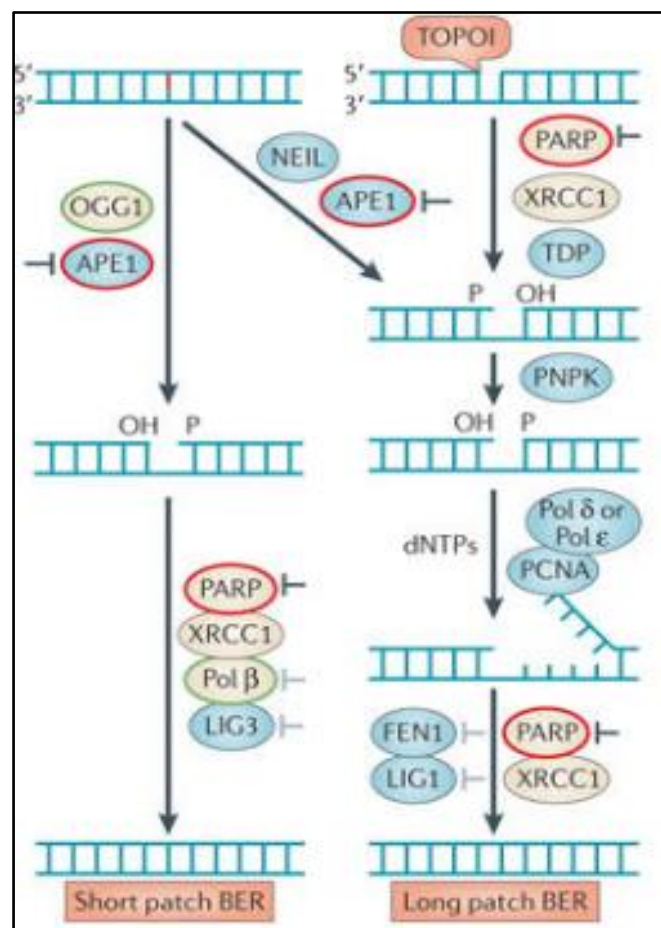


Figura 11 - Via de reparação por excisão de bases (BER). Imagem retirada de: [32]

3.2.1. XRCC1

O gene XRCC1, localizado no cromossoma 19q13.2, é considerado um elemento fundamental da via BER [33]. Codifica uma proteína “scaffold” que atua em conjunto várias proteínas de reparação, como a DNA ligase III, DNA Pol ρ e PARP1 [5, 10].

Foi sugerido que a proteína XRCC1 está envolvida na reparação de lesões intra ou inter-catenárias do DNA causadas por fármacos de platina. Por isso, pensa-se que variações genéticas no gene XRCC1 podem modular a reparação do DNA e ter uma influência no efeito dos fármacos de platina, tanto na sua eficácia no tratamento do cancro, como na sobrevivência e prognóstico dos doentes [33].

Os SNPs do gene XRCC1 foram extensivamente estudados, principalmente:

- Arg194Trp (rs1799782), uma substituição de uma citosina para timina (C→T) no codão 194, exão 6, que se traduz numa alteração do amino-ácido arginina para triptofano.
- Arg399Gln (rs25487), uma substituição de uma guanina para adenina (G→A) no codão 399, exão 10, que resulta na alteração do amino-ácido arginina para glutamina [10].

Os dois polimorfismos codificam para alterações nos aminoácidos produzidos e podem afetar o normal funcionamento da proteína por estarem localizados no domínio funcional da XRCC1 [12]. Ambos os polimorfismos Arg194Trp e Arg399Gln foram associados a uma reparação subótima do DNA [34]. Nas Tabelas 7 e 8 estão apresentados os resultados de vários estudos, incluindo meta-análises, para os polimorfismos de XRCC1, Arg194Trp e Arg399Gln, respetivamente.

Tabela 7 - Resultados para o polimorfismo XRCC1 Arg194Trp C→T

População em estudo	Resultados	Estudo/Ano/Referência
Etnia asiática (China), n=378	Não se verificaram relações significativas com a resposta ou prognóstico	Jin/ 2014/ [34]
Etnia caucasiana (Espanha), n=161	Não se verificaram associações significativas com ORR, OS ou toxicidade	Sullivan/ 2014/ [17]
Etnia asiática (China), n=375	Não se verificaram associações significativas com a resposta ou prognóstico	Zhang/ 2014/ [26]
Etnia asiática (China), n=322	Não foi encontrada relação com ORR ou OS	Liu/ 2015/ [35]
Etnia asiática (China), n=206	Genótipo TT foi associado a melhor ORR (OR=3.23 95%CI=1,20-9,30) e maior OS (HR=0,20 95%CI=0,07-0,62), comparativamente a CC	Zhao/ 2015/ [36]
Meta-análise com doentes de etnia asiática (China), n=2152	Genótipo TT foi associado a melhor ORR (OR=1.27 95%CI=0.92-1.77) comparativamente com os genótipos CT+CC	Li/ 2014/ [37]
Meta-análise com doentes de etnia asiática	O alelo T foi associado a melhor ORR em todos os modelos comparativos, em 3662 doentes. Não se verificou associação entre o polimorfismo e OS (em 1559 doentes) ou PFS (em 721 doentes)	Yuan/ 2015/ [33]

Tabela 7 (Cont.) - Resultados para o polimorfismo XRCC1 Arg194Trp C→T

Meta-análise com doentes de etnia asiática	Os genótipos TT (OR=1,66 95%CI=1,30-2,14) e CT (OR=1,62 95%CI=1,62 95%CI=1,35-1,93) foram associados a melhor ORR comparativamente ao genótipo CC (CT+TT vs CC: OR=1,63 95%CI 1,38-1,92), em 4807 doentes NSCLC	Gu/ 2015/ [38]
Meta-análise com doentes de etnia asiática, n=1208 (ORR) e n=721 (OS)	Os genótipos CC (OR=0,64 95%CI=0,44-0,91) e CC+CT (OR=0,79 95%CI=0,56-1,11) foram associados a menor ORR comparativamente ao genótipo TT. O genótipo CC também foi associado a menor OS (HR=1,19 95%CI=0,82-1,73).	Li/ 2017/ [39]

Tabela 8 - Resultados para o polimorfismo XRCC1 Arg399Gln G→A

População em estudo	Resultados	Estudo/Ano /Referência
Etnia asiática (China), n=378	O genótipo AA foi associado a melhor ORR (OR=2,27 95%CI=1,64-6,97), maior OS (HR=0,51 95%CI=0,26-0,98), e maior PFS (HR=0,48 95%CI=0,25-0,88) comparativamente ao genótipo GG	Jin/ 2014/ [34]
Etnia caucasiana (Espanha), n=161	Não se verificaram associações significativas com ORR, OS ou toxicidade	Sullivan/ 2014/ [17]
Etnia asiática (China), n=375	Genótipo AA foi associado a melhor ORR (OR=1,97 95%CI=1,05-3,84) e maior OS (HR= 0,55 95%CI=0,23-0,94), comparado com o genótipo GG. Sem relação com PFS	Zhang/ 2012/ [26]

Tabela 8 (Cont.) - Resultados para o polimorfismo XRCC1 Arg399Gln G→A

Etnia asiática (China), n=253	Genótipos GA (OR=1,93 95%CI=1,07–3,48) e AA (OR=4,89 95%CI=1,15–20,20) apresentam maior risco de toxicidade hematológica e a menor OS comparativamente ao genótipo GG	Peng/ 2014/ [40]
Etnia asiática (China), n=322	Genótipo AA foi associado a melhor ORR (OR=3,37 95%CI=1,44-8,53) e os genótipos AA (HR=0,39 95%CI=0,18-0,83) e GA (HR=0,54%CI=0,31-0,91) foram associados a maior OS, comparativamente ao genótipo GG	Liu/ 2015/ [35]
Etnia asiática (China), n=206	Não encontrou correlação entre o polimorfismo e ORR nem OS	Zhao 2015/ [36]
Etnia asiática (China), n=437	O genótipo AA foi associado a toxicidade gastrointestinal (OR=2,89 95%CI: 1,09-7,65) e leucocitopenia (OR=2,84 95%CI: 1,05-7,68) comparativamente a AG e GG; e a trombocitopenia (OR=2,03 95%CI: 1,11-3,72) comparativamente a GG	Zheng/ 2017/ [22]
Meta-análise com doentes de ambas as etnias, n=2256	O genótipo AA foi associado a melhor ORR comparativamente aos genótipos GG+GA (OR=0,46 95%CI=0,31-0,66)	Chen/ 2012/ [41]
Meta-análise com doentes de etnia asiática (China), n=2152	O genótipo AA foi associado a pior ORR (OR=0.46 95%CI=0.30-0.70) comparativamente a GA+GG	Li/ 2014/ [37]

Tabela 8 (Cont.) - Resultados para o polimorfismo XRCC1 Arg399Gln G→A

Meta-análise com doentes de ambas as etnias, n=4807	O genótipo AG foi associado a pior ORR comparativamente ao genótipo GG (OR=0,72 95%CI=0,55-0,92) no subgrupo de doentes chineses. A associação não foi encontrada na população caucasiana	Gu/ 2015/ [38]
Meta-análise com doentes de ambas as etnias, n=5360 para ORR, n=3707 para OS e n=1056 para PFS	Os genótipos GG e GA foram associados a pior ORR comparativamente a AA, apenas nos doentes asiáticos (OR=0,65 95%CI=0,50-0,86). Não se verificou associações significativas com OS e PFS	Yuan/ 2015/ [33]
Meta-análise com doentes de ambas as etnias, n=2814 para ORR e n=1180 para PFS	Não se verificou associação significativa com ORR. Os genótipos GG+GA foram associados a maior OS comparativamente a AA, no subgrupo de pacientes asiáticos (HR=0,65 95%CI=0,43-0,98). No subgrupo de doentes caucasianos, a tendência era inversa: GG parece diminuir OS, porém sem significado estatístico. Sem associações significativas com PFS.	Li/ 2017/[39]

Resultados relativos ao polimorfismo XRCC1 Arg194Trp (C→T) (ver Figura 12):

- Todos os doentes envolvidos no estudo do polimorfismo Arg194Trp são asiáticos, por este ser um polimorfismo genético raro na população caucasiana, com uma frequência inferior a 6% [33]. Apenas um estudo foi conduzido em doentes caucasianos, em que apenas 7 dos 161 pacientes incluídos apresentavam o polimorfismo. Nestas proporções não se verificaram associações significativas [17].
- Apesar de alguns estudos não terem encontrado nenhuma relação deste polimorfismo com os resultados clínicos de doentes asiáticos [26, 34, 35], vários

estudos e meta-análises demonstraram que o alelo T está associado a melhor ORR [33, 36-39] e maior OS comparativamente ao alelo C [36, 39].

Resultados relativos ao polimorfismo XRCC1 Arg399Gln (G→A) (ver Figura 13):

- Não foram encontradas associações significativas na população caucasiana [17, 33, 38, 39].
- Os resultados de estudos e meta-análises na população asiática são contraditórios. Enquanto a maior parte dos estudos refere que os genótipos AA ou GA aumentam a ORR [26, 33-35, 39, 41], OS [26, 34, 35] e PFS [34], outros indicam que causam diminuição ORR [37] e OS [39, 40]. Estudos de toxicidade demonstraram o alelo A está relacionado com o risco aumentado de toxicidade hematológica [40], leucocitopenia, trombocitopenia e toxicidade gastrointestinal [22].

Os efeitos de ambos os polimorfismos em XRCC1 parecem estar dependentes da etnia. Meta-análises recentes vieram confirmar a associação com a resposta em doentes asiáticos, mas o mesmo não se verifica em doentes caucasianos [10].

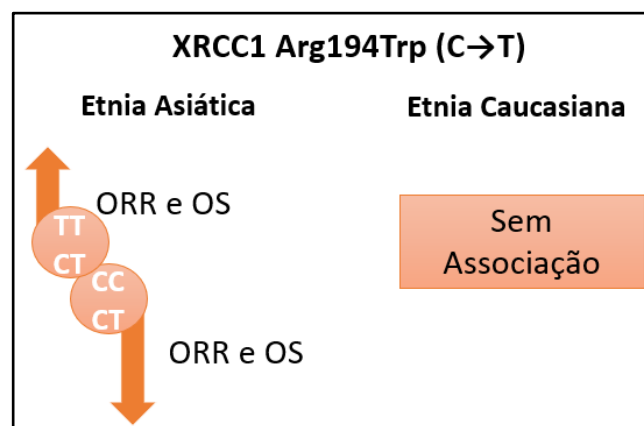


Figura 12 - Efeito do polimorfismo XRCC1 Arg194Trp nos resultados clínicos de doentes de etnias asiática e caucasiana

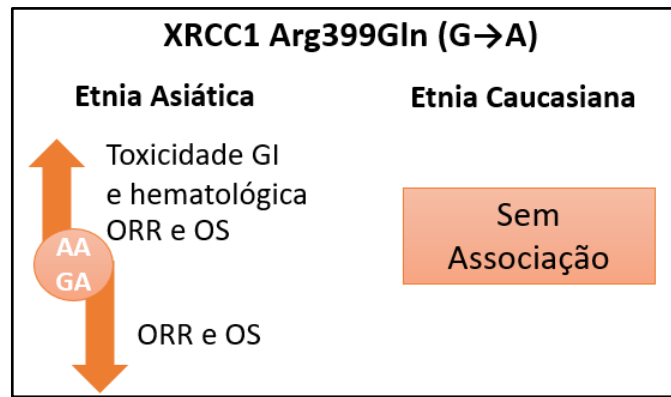


Figura 13 - Efeito do polimorfismo XRCC1 Arg399Gln nos resultados clínicos de doentes de etnias asiática e caucasiana.

3.3. Discussão

A quimioterapia com fármacos de platina constitui a primeira linha de tratamento no cancro do pulmão avançado. Porém, os pacientes submetidos a este tratamento apresentam grandes diferenças nos resultados clínicos e no prognóstico. Diversos estudos referem que marcadores farmacogenómicos como os SNPs podem ser úteis na predição da resposta à quimioterapia baseada em platina nos doentes com carcinoma do pulmão [5]. A presente monografia teve como objetivo avaliar o papel de alguns dos polimorfismos genéticos mais estudados na resposta à quimioterapia com fármacos de platina em doentes com cancro do pulmão, com base na literatura publicada recentemente. Nomeadamente, os polimorfismos nos genes da via NER, ERCC1, ERCC2, ERCC5 e da via BER, XRCC1.

Os resultados encontrados na literatura sugerem que os efeitos dos polimorfismos genéticos na resposta à quimioterapia e no prognóstico de doentes com cancro do pulmão são dependentes da etnia [33]. Porém, os resultados dos vários estudos e meta-análises consultados são contraditórios para todos os polimorfismos, ou seja, nem todos os estudos verificam associações significativas.

O polimorfismo em ERCC1 Asn118Asn (C→T), o alelo T foi associado a menor ORR [19, 21], menor OS [19, 21, 23] e a anemia severa, em doentes asiáticos com NSCLC [22]. Contudo, estes resultados não se verificaram em todas as meta-análises [9]. Contrariamente, em doentes caucasianos, um estudo indica que o genótipo CC piora ORR [17]. Para além disso, os outros estudos e meta-análises disponíveis não encontraram associações significativas na população caucasiana [19, 20, 23]. Para o polimorfismo ERCC1 C8092A (C→A), o alelo A foi associado a toxicidade hematológica [22] e a diminuição da ORR e OS em doentes asiáticos [19, 21]. Contudo, nem todas as meta-análises confirmaram estas associações [9, 23]. Não foram encontrados efeitos significativos na população caucasiana [17, 19, 23].

Para os polimorfismos em ERCC2, Asp312Asn (G→A) e Lys751Gln (A→C), a maioria dos estudos não encontrou associações significativas das variantes genéticas e os resultados clínicos de doentes de ambas as etnias [9, 17, 26-28]. Os estudos que encontraram relações significativas, associam o alelo A do polimorfismo Asp312Asn a

uma resposta desfavorável à quimioterapia com fármacos de platina [27]. O genótipo GA foi associado a menor OS em doentes asiáticos [24, 27], embora tenha sido associado a maior OS na população caucasiana [27]. Os genótipos CC e CA do Lys751Gln foram associados menor PFS [25], e um estudo associou o genótipo AA a maior sobrevivência, em doentes asiáticos [24]. Não foram encontradas relações entre o polimorfismo Lys751Gln e os resultados clínicos de doentes caucasianos [17, 25, 27].

O genótipo TT do polimorfismo ERCC5 His46His (C→T) foi associado a uma resposta e prognóstico desfavoráveis [16] e a um maior risco de leucocitopénia, em doentes asiáticos [22]. Porém, outros estudos indicam que tem um efeito favorável [9, 13]. A maioria dos estudos do polimorfismo ERCC5 His1104Asp (G→C) não encontraram associações significativas [13, 16, 17, 30]. O genótipo CC foi associado a maior risco de trombocitopénia [22], e o genótipo GG foi associado a maior ORR, no subgrupo asiático [31]. Não se verificaram associações de ambos os polimorfismos em ERCC5 na população caucasiana [17, 31].

No que respeita aos polimorfismos no gene XRCC1 da via BER, não foram encontradas associações do polimorfismo Arg194Trp (C→T) em doentes caucasianos [17], sendo esta uma variante rara nesta população [33]. Na população asiática, o alelo T foi associado a melhor ORR [33, 36-39] e maior OS [36, 39]. Para o polimorfismo XRCC1 Arg399Gln (G→A), também não foram encontradas associações significativas na população caucasiana [17, 33, 38, 39]. Os resultados dos vários estudos e meta-análises são contraditórios na etnia asiática. Os genótipos AA/GA foram associados a uma resposta e prognóstico favoráveis na maioria dos estudos [26, 33-35, 41]. Contudo, outros estudos referem que tem efeito desfavorável [37, 39]. Estudos de toxicidade demonstraram que os genótipos AA/GA aumentam o risco de toxicidade hematológica [22, 40] e gastrointestinal [22].

A grande vantagem de se realizar este tipo de abordagem genética em vez da análise dos níveis de expressão do mRNA das proteínas no tecido pulmonar consiste no facto dos polimorfismos serem mais acessíveis, mais facilmente analisados e constantes ao longo do tempo [17]. É difícil obter tecido tumoral nos casos mais avançados, o que aumenta a necessidade de se identificar biomarcadores de prognóstico menos invasivos

para os doentes NSCLC [27]. Neste sentido, os polimorfismos genéticos são uma ferramenta ideal para serem utilizados como biomarcadores preditivos dos resultados clínicos em doentes com cancro do pulmão avançado [17].

No entanto, são várias as limitações dos estudos consultados que são referidas pelos próprios autores. Neste contexto, é fundamental mencioná-los como principais limitações nesta monografia:

- Os mecanismos responsáveis pela influência dos SNPs nos resultados da quimioterapia não são exatamente conhecidos. O que levanta a questão se estes polimorfismos realmente afetam a eficácia dos fármacos de platina, ou se simplesmente melhoram a sobrevivência dos doentes [40].
- O efeito de um único polimorfismo na quimioterapia pode ser modesto, tendo em conta que são vários os genes que podem interferir na resposta aos fármacos de platina. O que torna difícil a descoberta de associações significativas quando se estuda apenas um polimorfismo [5].
- Outros polimorfismos com influência nos resultados clínicos dos pacientes não foram contemplados nesta monografia. Estes podem estar situados nos mesmos genes apresentados ou noutros genes das vias de reparação do DNA, das vias apoptóticas, relacionados com o transporte ou biotransformação dos fármacos de platina [10, 19].
- Além dos fatores genéticos, muitos outros fatores podem afetar a sobrevivência, toxicidade ou efetividade do tratamento. Estes fatores não foram tidos em conta nos estudos consultados ou na monografia:

-Fatores individuais como a idade, género, co-morbilidades, subtipo histológico, estilo de vida, tabagismo, alcoolismo, estado nutricional, funções renal e hepática e fatores ambientais [9, 19, 41].

-Fatores relacionados com a terapêutica instituída. Apesar de todos os doentes terem sido submetidos a quimioterapia baseada em platina, o tratamento difere nos regimes terapêuticos, fármacos utilizados, vias de administração, número de ciclos e terapêutica concomitante. A quimioterapia pode ter sido acompanhada de radioterapia ou cirurgia em alguns doentes [5, 19, 27, 41].

-Fatores relativos aos estudos, nomeadamente as diferenças na qualidade e no desenho dos estudos, métodos de genotipagem, protocolos de tratamento,

critérios de inclusão e exclusão, critérios de avaliação, tamanho da amostra e no ajuste dos dados tendo em conta os fatores interferentes [5, 33, 41].

- A maior parte dos estudos originais foram conduzidos com um número de doentes relativamente pequeno e os resultados obtidos devem ser validados em amostras maiores para se obter resultados com maior poder estatístico. Para se conseguir conclusões mais realistas foram realizadas várias meta-análises que juntaram os dados obtidos nesses estudos. Contudo, existe grande heterogeneidade entre os estudos e entre os doentes envolvidos, o que leva a um agrupamento parcial de dados e os resultados são pouco conclusivos [33, 41].
- Apenas foram consultados estudos publicados na língua inglesa, tendo-se excluído os estudos escritos noutras línguas.
- A maior parte dos estudos encontrados na pesquisa foram realizados com doentes da população chinesa e foram encontrados poucos estudos com doentes caucasianos. As conclusões obtidas desses estudos não se podem generalizar para a população em geral [33].
- Foram encontrados poucos estudos que avaliaram a toxicidade em doentes com cancro do pulmão.

Apesar de todas as limitações, muitos estudos conseguiram encontrar relações significativas entre os polimorfismos em estudo e os resultados clínicos dos doentes sujeitos a quimioterapia baseada em platina. Alguns deles tiveram concordância entre os resultados. Contudo, os estudos são ainda muito limitados à população chinesa e não há evidências suficientes para se transpor estes resultados na prática clínica. A maior parte dos estudos não encontrou associações entre os polimorfismos analisados e os resultados clínicos de doentes caucasianos. É possível que esta ausência de correlação seja reflexo da falta de dados, visto que existem, na literatura, muitos mais estudos conduzidos na população chinesa do que na população caucasiana. Além disso, várias meta-análises mostraram uma diferença relevante entre os resultados das duas etnias [19, 23, 25, 27, 31, 33, 38, 39], o que sugere que o fator étnico deve ser um fator preponderante na decisão clínica. Para ultrapassar algumas das limitações encontradas na realização desta monografia, sugere-se a realização de mais estudos, com amostras de maior dimensão e de diferentes populações, principalmente com doentes

caucasianos. É necessário caracterizar o efeito na toxicidade, uniformizar o desenho dos estudos, das técnicas utilizadas e critérios de avaliação. Se possível, analisar vários polimorfismos num único estudo e criar mais subgrupos em análise além da etnia e do estágio da doença, nomeadamente, hábitos tabágicos, subtipo histológico e regimes terapêuticos.

A farmacogenómica é essencial no futuro da medicina no combate ao cancro [5]. Nesta monografia verificamos que tem sido realizado um grande esforço na descoberta de novos biomarcadores preditivos do prognóstico e da resposta à quimioterapia com fármacos de platina, principalmente na China. Ainda são necessários mais estudos, maiores e de melhor qualidade para se chegar a conclusões mais consistentes. Além da descoberta de biomarcadores genéticos, também é importante investir na investigação de novos fármacos, terapias direcionadas, no diagnóstico precoce e na prevenção do cancro do pulmão, para melhorar a sobrevivência dos doentes e a história clínica da doença.

4. Conclusões

O tratamento de primeira linha para a maior parte dos doentes com cancro do pulmão consiste na quimioterapia com fármacos de platina, que provocam danos no DNA e consequentemente a morte celular por apoptose. Porém a resposta à quimioterapia é heterogénea entre os doentes. Um dos mecanismos de resistência aos agentes platina é o aumento da eficácia da reparação do DNA, permitindo a sobrevivência da célula. Diferenças genéticas como SNPs nos genes de reparação podem estar na origem das diferenças entre os resultados clínicos de doentes com cancro do pulmão tratados com quimioterapia baseada em platina por influenciarem a eficácia ou a expressão das proteínas de reparação. A descoberta de novos biomarcadores preditivos da resposta à quimioterapia e do prognóstico contribui para o desenvolvimento do tratamento personalizado do cancro do pulmão. Nesta monografia, pretendeu-se caracterizar a influência de oito polimorfismos genéticos, localizados nos genes ERCC1, ERCC2, ERCC5 da via de reparação NER e no gene XRCC1 da via BER, na resposta à quimioterapia, sobrevivência e toxicidade. Analisou-se vários estudos e meta-análises publicados recentemente, conduzidos em doentes NSCLC. Os resultados dos estudos são contraditórios para todos os polimorfismos em estudo e parecem estar dependentes da etnia. Em doentes asiáticos, os polimorfismos no gene ERCC1 Asn118Asn e C8092A foram associados a resposta e prognóstico desfavoráveis. Relativamente à toxicidade, foram associados a toxicidade hematológica. Para os polimorfismos Asp312Asn e Lys751Gln do gene ERCC2 e His1104Aso do ERCC5, a maioria dos estudos não encontraram associações significativas em doentes de ambas as etnias. Os resultados para o polimorfismo His46His do ERCC5 são contraditórios relativamente à resposta e prognóstico. Os polimorfismos His46His e His1104Asp em ERCC5 foram associados a maior risco de leucocitopenia e trombocitopenia, respetivamente. Os polimorfismos Arg194Trp e Arg399Gln do gene XRCC1 foram associados a melhor resposta e maior sobrevivência, em doentes asiáticos. Estudos de toxicidade demonstraram que o polimorfismo Arg399Gln aumenta o risco de toxicidade hematológica e gastrointestinal.

Os resultados sugerem que os polimorfismos analisados podem ser potenciais biomarcadores preditivos da resposta à quimioterapia e do prognóstico, em doentes

asiáticos, com exceção dos polimorfismos no gene ERCC2 (Asp312Asn e Lys751Gln) e ERCC5 (His46His e His1104Asp). No entanto, a maior parte dos estudos não encontrou associações entre os polimorfismos analisados e os resultados clínicos de doentes caucasianos. É necessário realizar mais estudos, de melhor qualidade e com amostras de maiores dimensões para que se obter conclusões mais sólidas. A farmacogenómica é uma ferramenta indispensável para o avanço do tratamento oncológico, não esquecendo a importância do diagnóstico precoce e da prevenção.

Referências Bibliográficas

1. Brambilla E, Travis WD. Chapter 5.1 Lung Cancer. In: Stewart BW, Wild CP, editors. World cancer report 2014. IARC Press; 2014. p. 350-361.
2. George FHM. Norma da Direção Geral de Saúde: Diagnóstico e tratamento do carcinoma de não pequenas células do pulmão. DGS; 2013 Dez 12. 36 p. Norma nº. 032/2013
3. Global Cancer Observatory [Internet]. IARC; 2017 [citado em 2017 Mar 20]. Disponível em: https://gco.iarc.fr/today/online-analysis-map?mode=population&mode_population=continents&population=900&sex=0&cancer=29&type=0&statistic=0&prevalence=0&color_palette=default&projection=natural-earth
4. Yu S-N, Liu G-F, Li X-F, Fu B-H, Dong L-X, Zhang S-H. Evaluation of prediction of polymorphisms of DNA repair genes on the efficacy of platinum-based chemotherapy in patients with non-small cell lung cancer: A network meta-analysis. *Journal of Cellular Biochemistry*. 2017 Jul;118(12):4782–91.
5. Xiong Y, Huang B-Y, Yin J-Y. Pharmacogenomics of platinum-based chemotherapy in non-small cell lung cancer: focusing on DNA repair systems. *Medical Oncology*. 2017;34(4):16p.
6. Pérez-Ramírez C, Cañadas-Garre M, Alnatsha A, Villar E, Delgado JR, Faus-Dáder MJ, et al. Pharmacogenetic predictors of toxicity to platinum based chemotherapy in non-small cell lung cancer patients. *Pharmacological Research*. 2016;111:877-884.
7. Wang D, Lippard SJ. Cellular processing of platinum anticancer drugs. *Nature Reviews Drug Discovery*. 2005;4(4):307–20.
8. Dasari S, Tchounwou PB. Cisplatin in cancer therapy: Molecular mechanisms of action. *European Journal of Pharmacology*. 2014;740:364–78.
9. Huang D, Zhou Y. Nucleotide excision repair gene polymorphisms and prognosis of non-small cell lung cancer patients receiving platinum-based chemotherapy: A meta-analysis based on 44 studies. *Biomedical Reports*. 2014;2(4):452–62.
10. Pérez-Ramírez C, Cañadas-Garre M, Molina MÁ, Robles AI, Faus-Dáder MJ, Calleja-Hernández MÁ. Contribution of genetic factors to platinum-based

- chemotherapy sensitivity and prognosis of non-small cell lung cancer. *Mutation Research/Reviews in Mutation Research*. 2017;771:32–58.
11. Nussbaum RL, McInnes RR, Willard HF, Hamosh A, Thompson MW. Thompson & Thompson genetics in medicine. 7th Edition. Saunders/Elsevier; 2007.
 12. D'Antonio C, Milano A, Righini R, Onesti CE, Bassanelli M, Falcone R, et al. Pharmacogenomics in lung cancer chemotherapy: A review of what the oncologist should know. *Anticancer Research*. 2014; 34: 5241-5250.
 13. Liu D, Wu J, Shi G, Zhou H, Yu Y. Role of XRCC1 and ERCC5 polymorphisms on clinical outcomes in advanced non-small cell lung cancer. *Genetics and Molecular Research*. 2014;13(2):3100–7.
 14. The Many Ways Neurons Repair Their Own DNA [Internet]. Jon Lieff, M.D. 2014. [citado em 2017 Nov 8] Disponível em: <http://jonlieffmd.com/blog/the-many-ways-neurons-repair-their-own-dna>
 15. Stare J, Maucort-Boulcj D. Odds Ratio, Hazard Ratio and Relative Risk Metodoloski zvezki. 2016;13(1):59-67.
 16. Zhang T, Sun J, Lv M, Zhang L, Wang X, Ren J-C, et al. XPG is predictive gene of clinical outcome in advanced non-small-cell lung cancer with platinum drug therapy. *Asian Pacific Journal of Cancer Prevention*. 2013;14(2):701–5.
 17. Sullivan I, Salazar J, Majem M, Pallarés C, Río ED, Páez D, et al. Pharmacogenetics of the DNA repair pathways in advanced non-small cell lung cancer patients treated with platinum-based chemotherapy. *Cancer Letters*. 2014;353(2):160–6.
 18. Chakarov S, Petkova R, Russev GC. DNA repair systems [Internet]. BioDiscovery. Dundee Science Press; 2014. [citado em 2017 Out 15] Disponível em: <http://www.biodiscoveryjournal.co.uk/Archive/A41.htm>
 19. Han Y, Liu J, Sun M, Zhang Z, Liu C, Sun Y. A significant statistical advancement on the predictive values of ERCC1 polymorphisms for clinical outcomes of platinum-based chemotherapy in non-small cell lung cancer: An updated meta-analysis. *Disease Markers*. 2016;2016:1–13.
 20. Mlak R, Krawczyk P, Ramlau R, Kalinka-Warzocha E, Wasylecka-Morawiec M, Wojas-Krawczyk K, et al. Predictive value of ERCC1 and RRM1 gene single-nucleotide polymorphisms for first-line platinum- and gemcitabine-

- based chemotherapy in non-small cell lung cancer patients. *Oncology Reports*. 2013;30(5):2385–98.
21. Gao H, Ge R, Liu H, Wang Y, Yan S. Effect of ERCC1 polymorphism on the response to chemotherapy and clinical outcome of non-small cell lung cancer. *Genetics and Molecular Research*. 2014;13(4):8997–9004.
 22. Zheng Y, Deng Z, Yin J, Wang S, Lu D, Wen X, et al. The association of genetic variations in DNA repair pathways with severe toxicities in NSCLC patients undergoing platinum-based chemotherapy. *International Journal of Cancer*. 2017;141(11):2336–47.
 23. Xu T-P, Shen H, Liu L-X, Shu Y-Q. Association of ERCC1-C118T and -C8092A polymorphisms with lung cancer risk and survival of advanced-stage non-small cell lung cancer patients receiving platinum-based chemotherapy: A pooled analysis based on 39 reports. *Gene*. 2013;526(2):265–74.
 24. Zhou M, Ding Y, Feng Y, Zhang Q, Xiang Y, Wan H. Association of xeroderma pigmentosum group D (Asp312Asn, Lys751Gln) and cytidine deaminase (Lys27Gln, Ala70Thr) polymorphisms with outcome in Chinese non-small cell lung cancer patients treated with cisplatin-gemcitabine. *Genetics and Molecular Research*. 2014;13(2):3310–8.
 25. Qin Q, Zhang C, Yang X, Zhu H, Yang B, Cai J, et al. Polymorphisms in XPD Gene Could Predict Clinical Outcome of Platinum-Based Chemotherapy for Non-Small Cell Lung Cancer Patients: A Meta-Analysis of 24 Studies. *PLoS ONE*. 2013;8(11).
 26. Zhang L, Ma W, Li Y, Wu J, Shi G. Pharmacogenetics of DNA repair gene polymorphisms in non-small-cell lung carcinoma patients on platinum-based chemotherapy. *Genetics and Molecular Research*. 2014;13(1):228–36
 27. Qiu M, Yang X, Hu J, Ding X, Jiang F, Yin R, et al. Predictive Value of XPD Polymorphisms on Platinum-Based Chemotherapy in Non-Small Cell Lung Cancer: A Systematic Review and Meta-Analysis. *PLoS ONE*. 2013;8(8).
 28. Cheng H, Qin Q, Sun X, Li F, Sun N, Cheng L, et al. Predictive effect of XPA and XPD polymorphisms on survival of advanced NSCLC patients treated with platinum-based chemotherapy: A three-dimensional (3-D), polyacrylamide gel-

- based DNA microarray method. *Technology in cancer research & treatment*. 2013;12(5):473–82.
29. Li X-D, Han J-C, Zhang Y-J, Li H-B, Wu X-Y. Common variations of DNA repair genes are associated with response to platinum-based chemotherapy in NSCLCs. *Asian Pacific Journal of Cancer Prevention*. 2013;14(1):145–8.
 30. Yi Y, Zhe S. XPG is a novel biomarker of clinical outcome in advanced non-small-cell lung cancer. *Pakistan Journal of Medical Sciences*. 2013;29(3).
 31. Xiang T, Kang X, Gong Z, Bai W, Chen C, Zhang W. XPG genetic polymorphisms and clinical outcome of patients with advanced non-small cell lung cancer under platinum-based treatment: a meta-analysis of 12 studies. *Cancer Chemotherapy Pharmacology*. 2017; 79:791–800.
 32. Curtin NJ. DNA repair dysregulation from cancer driver to therapeutic target. [Internet] *Nature Reviews Cancer*. 2012; 12:801-817. [Citado em 2017 Out 15] Disponível em: <http://www.nature.com/articles/nrc3399>
 33. Yuan Z, Li J, Hu R, Jiao Y, Han Y, Weng Q. Predictive assessment in pharmacogenetics of XRCC1 gene on clinical outcomes of advanced lung cancer patients treated with platinum-based chemotherapy. *Scientific Reports*. 2015;5(1).
 34. Jin Z, Zhao X, Zhang L, Wang Y, Yue W, Xu S. Effects of polymorphisms in the XRCC1, XRCC3, and XPG genes on clinical outcomes of platinum-based chemotherapy for treatment of non-small cell lung cancer. *Genetics and Molecular Research*. 2014;13(3):7617–25.
 35. Liu J, Li L, Liu Q. Association of GSTP1 and XRCC1 gene polymorphisms with clinical outcomes of patients with advanced non-small cell lung cancer. *Genetics and Molecular Research*. 2015;14(3):10331–7.
 36. Zhao R, Chan G. Role of GSTP1 Ile105Val and XRCC1 Arg194Trp, Arg280His and Arg399Gln gene polymorphisms in the clinical outcome of advanced non-small cell lung cancer. *Int J Clin Exp Pathol*. 2015; 8(11): 14909-14916.
 37. Li L, Wan C, Wen F. Polymorphisms in the XRCC1 gene are associated with treatment response to platinum chemotherapy in advanced non-small cell lung

- cancer patients based on meta-analysis. *Genetics and Molecular Research*. 2014;13(2):3772–86.
38. Gu A-Q, Wang W-M, Chan W-Y, Shi C-L, Lu J-H, Han J-Q. XRCC1 genetic polymorphisms and sensitivity to platinum-based drugs in non-small cell lung cancer: an update meta-analysis based on 4708 subjects. *Int J Clin Exp Med* 2015;8(1):145-154.
 39. Li D-J, Xiao D. Association between the XRCC1 polymorphisms and clinical outcomes of advanced NSCLC treated with platinum-based chemotherapy: a meta-analysis based on the PRISMA statement. *BMC Cancer*. 2017;17(501).
 40. Peng Y, Li Z, Zhang S, Xiong Y, Cun Y, Qian C, et al. Association of DNA base excision repair genes (OGG1, APE1 and XRCC1) polymorphisms with outcome to platinum-based chemotherapy in advanced nonsmall-cell lung cancer patients. *International Journal of Cancer*. 2014;135(11):2687–96.
 41. Chen J, Zhao Q-W, Shi G-M, Wang L-R. XRCC1 Arg399Gln and clinical outcome of platinum-based treatment for advanced non-small cell lung cancer: a meta-analysis in 17 studies. *Journal of Zhejiang University SCIENCE B*. 2012;13(11):875–83.